

Prosedur surveilans penyakit pada udang penaeid



© BSN 2014

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh isi dokumen ini dengan cara dan dalam bentuk apapun serta dilarang mendistribusikan dokumen ini baik secara elektronik maupun tercetak tanpa izin tertulis dari BSN

BSN
Gd. Manggala Wanabakti
Blok IV, Lt. 3,4,7,10.
Telp. +6221-5747043
Fax. +6221-5747045
Email: dokinfo@bsn.go.id
www.bsn.go.id

Diterbitkan di Jakarta

Daftar isi

Daftar isi.....	i
Prakata	ii
1 Ruang lingkup.....	1
2 Acuan normatif	1
3 Istilah dan definisi	1
4 Peralatan	2
5 Bahan	3
6 Prosedur.....	3
Lampiran A (informatif) Cara pembuatan larutan fiksatif Davidson untuk setiap liter	7
Lampiran B (informatif) Cara perhitungan contoh uji dengan rumus	8
Lampiran C (informatif) Cara perhitungan contoh uji dengan Software Survey Toolbox.....	10
Bibliografi	14



Prakata

Dalam rangka keberlanjutan usaha budidaya, meningkatkan produktivitas dan jaminan mutu komoditas perikanan budidaya maka perlu disusun suatu Standar Nasional Indonesia (SNI) tentang Prosedur surveilans penyakit pada udang penaeid.

Standar ini dirumuskan oleh Panitia Teknis (PT) 65-07 Perikanan Budidaya dan dibahas dalam rapat konsensus pada tanggal 27 Agustus 2013 di Bogor yang dihadiri oleh anggota panitia teknis, unsur pemerintah, lembaga penelitian dan instansi terkait lainnya dengan memperhatikan:

1. Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan RI No. PER. 19/Men/2010 tentang Pengendalian Sistem Jaminan Mutu dan Keamanan Hasil Pangan.
2. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI No. Kep. 01/Men/2002 tentang Sistem Manajemen Mutu Terpadu Hasil Perikanan.
3. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI No. Kep. 06/Men/2002 tentang Persyaratan dan Tata Cara Pemeriksaan Mutu Hasil Perikanan yang Masuk ke wilayah Republik Indonesia.
4. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI No. Kep. 21/Men/2004 tentang Sistem Pengawasan dan Pengendalian Mutu Hasil Perikanan untuk Pasar Uni Eropa.
5. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI No. Kep. 03/Men/2010 tentang Daftar Hama Penyakit Ikan Karantina.
6. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia No. 28 tahun 2004 tentang Keamanan, Mutu dan Gizi Pangan.

Standar ini telah melalui proses jajak pendapat pada tanggal 8 November 2013 sampai dengan 6 Januari 2014 dengan hasil akhir RASNI.

Prosedur surveilans penyakit pada udang penaeid

1 Ruang lingkup

Standar ini menetapkan prosedur surveilans untuk keperluan penentuan insidensi, prevalensi, notifikasi dan pemetaan penyakit pada udang penaeid.

2 Acuan normatif

SNI 7304:2009 *Prosedur diagnosis penyakit viral secara histopatologik pada udang Penaeid*

SNI 7305:2009 *Metode Polymerase Chain Reaction (PCR) untuk identifikasi White Spot Syndrome Virus (WSSV) dan Infectious Hypodermal and Haematopoietic Necrosis Virus (IHHNV)*

SNI 7306:2009 *Prosedur pengambilan dan pengiriman contoh ikan untuk pemeriksaan penyakit*

SNI 7307:2009 *Metode Reverse Transcriptase (RT) - Polymerase Chain Reaction (PCR) untuk identifikasi Taura Syndrome Virus (TSV) dan Yellow Head Virus (YHV)*

SNI 7662.1:2011 *Deteksi Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) pada udang penaeid – Bagian 1: Metode reverse transcriptase – polymerase chain reaction (RT-PCR)*

SNI 7662.2:2011 *Deteksi Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) pada udang penaeid – Bagian 2: Metode histopatologi*

SNI 7667:2011 *Deteksi Taura Syndrome Virus pada udang penaeid dengan metode histopatologi*

3 Istilah dan definisi

Untuk tujuan dan penggunaan dalam dokumen ini, istilah dan definisi berikut digunakan.

3.1

histologi

ilmu yang mempelajari struktur, komposisi dan fungsi suatu jaringan dalam tubuh

3.2

histopatologi

perubahan struktur dan fungsi pada jaringan maupun organ tubuh yang disebabkan oleh penyakit setelah proses histologi

3.3

insidensi

jumlah kasus penyakit baru yang terjadi pada suatu populasi dalam satu waktu tertentu

3.4

larutan fiksatif

suatu larutan yang berfungsi mencegah denaturasi dan autolisis protein

3.5

notifikasi

prosedur yang dilakukan oleh otoritas kompeten dalam menyatakan kejadian suatu penyakit

3.6

otoritas kompeten

otoritas veteriner yang memiliki tanggung jawab dan kompetensi untuk menjamin serta supervisi terhadap implementasi kesehatan hewan akuatik dan standarnya dalam satu negara tertentu

3.7

PCR

suatu proses di mana sekuens asam nukleat dapat direplikasi atau amplifikasi asam nukleat

3.8

prevalensi

jumlah individu dalam populasi contoh uji yang terinfeksi suatu patogen dan dinyatakan dalam satuan persentase

3.9

sampling

proses menyeleksi suatu unit contoh uji dari suatu populasi

3.10

surveilans

suatu investigasi sistematis pada suatu populasi hewan akuatik untuk mendeteksi terjadinya penyakit sebagai fungsi untuk kontrol dan meliputi pengujian contoh uji dari suatu populasi

3.11

tambak tradisional

tambak yang dibangun di lahan pasang surut atau berupa rawa bakau. Ukuran dan bentuk petakan tidak teratur, luas petakan antara 3 ha – 10 ha, belum menggunakan pupuk dan obat-obatan serta bergantung pada pakan alami dan padat penebaran rendah

3.12

tambak intensif

tambak yang dibangun pada daerah yang khusus untuk tambak dalam wilayah yang luas, ukuran petakan dibuat kecil untuk efisiensi pengelolaan air dan pengawasan udang, padat tebar tinggi, sudah menggunakan kincir bergantung pada pakan buatan

4 Peralatan

- a) *dissecting set*;
- b) ember;
- c) gayung;
- d) GPS;
- e) jaring;
- f) kamera digital minimal 5 MP;
- g) kantung plastik;
- h) *portable water quality tester*;
- i) tabung oksigen;
- j) termometer.

5 Bahan

- a) alat tulis;
- b) alkohol 95%;
- c) alkohol 70%;
- d) botol plastik 50 ml;
- e) larutan fiksatif Davidson (cara pembuatan pada Lampiran A);
- f) larutan preservasi RNA;
- g) sarung tangan;
- h) tabung mikro 1,5 ml.

6 Prosedur

6.1 Umum

- a) Penentuan tingkat resiko atau definisi kasus pada surveilans ditentukan oleh tiga faktor:
 - 1) kondisi ekologis;
 - 2) tingkat teknologi yang digunakan petambak;
 - 3) penerapan biosekuriti.
- b) Metode pengambilan contoh (*sampling method*) yang digunakan ada empat yaitu:
 - 1) acak sederhana (*simple random*)
sejumlah contoh uji diambil secara acak dari suatu populasi. Metode acak sederhana dapat menggunakan kartu dan dadu untuk jumlah contoh uji kecil dan menggunakan tabel nomor acak dan komputer untuk jumlah contoh uji yang besar.
 - 2) acak sistematis (*systematic random*)
contoh uji diambil/dipilih pada interval (selang) tertentu.
 - 3) acak berlapis (*stratified random*)
populasi dibagi-bagi dalam beberapa strata. Strata yang digunakan berkaitan dengan penyakit yang disurveilans, jenis, tipe unit produksi (pembenihan, penggelondongan atau pembesaran) dan kondisi lingkungan/geografis. Selanjutnya contoh uji diambil pada setiap strata dengan menggunakan pengambilan sampel acak sederhana atau sistematis.
 - 4) purposif (*non random*)
contoh uji diambil/dipilih berdasarkan target patogen tertentu.

CATATAN 1 Populasi homogen, maka pengambilan contoh uji menggunakan metode acak sederhana atau acak sistematis.

CATATAN 2 Populasi heterogen, maka disarankan untuk menggunakan metode acak berlapis.

CATATAN 3 Metode purposif ditujukan untuk keperluan notifikasi penyakit tertentu.

- c) Perhitungan jumlah contoh uji yang diperlukan dapat menggunakan tiga cara yaitu:

1) Dugaan prevalensi pada suatu ukuran populasi sesuai Tabel 1 :

Tabel 1 - Perhitungan jumlah contoh uji untuk surveilans

Ukuran populasi	Dugaan prevalensi (%)						
	0,5	1	2	3	4	5	10
50	46	46	46	37	37	29	20
100	93	93	76	61	50	43	23
250	192	156	110	75	62	49	25
500	314	223	127	88	67	54	26
1 000	448	256	136	92	69	55	27
2 500	512	279	142	95	71	56	27
5 000	562	288	145	96	71	57	27
10 000	579	292	146	96	72	29	27
100 000	594	296	147	97	72	57	27
1 000 000	596	297	147	97	72	57	27
>1 000 000	600	300	150	100	75	60	30

2) Rumus perhitungan sebagai berikut:

$$n = 4 PQ / L^2$$

n : jumlah contoh uji pada tingkat kepercayaan 95%

P : prevalensi penyakit

L : tingkat galat/penyimpangan

$$Q = 1 - P$$

Contoh perhitungan contoh uji dengan rumus di atas tersaji pada Lampiran B.

3) *Software Survey Toolbox dari AusVet Animal Health Service*

Penghitungan jumlah contoh uji yang diperlukan pada *software Survey Toolbox* memerlukan input data sebagai berikut :

- sensitivitas dan spesifitas metode uji;
- jumlah populasi yang akan disurveil;
- tingkat prevalensi penyakit;
- galat tipe i atau ii;
- jumlah contoh uji yang akan diambil;
- jumlah hasil positif yang terdeteksi.

Contoh perhitungan contoh uji dengan *software* tersaji pada Lampiran C.

6.2 Desain pengambilan contoh

6.2.1 Tambak tradisional berisiko tinggi

- metode pengambilan contoh yang digunakan adalah acak berlapis dan acak sederhana;
- dugaan prevalensi sebesar 10%.

6.2.2 Tambak tradisional berisiko rendah

- a) metode pengambilan contoh yang digunakan adalah acak berlapis dan acak sederhana;
- b) dugaan prevalensi sebesar 2% - 5%.

6.2.3 Tambak intensif berisiko tinggi

- a) metode pengambilan contoh yang digunakan adalah acak sederhana;
- b) dugaan prevalensi sebesar 10%.

6.2.4 Tambak intensif berisiko rendah

- a) metode pengambilan contoh yang digunakan adalah acak sederhana;
- b) dugaan prevalensi sebesar 2% - 5%.

6.2.5 Tambak campuran berisiko tinggi

- a) metode pengambilan contoh yang digunakan adalah acak berlapis dan acak sederhana;
- b) dugaan prevalensi sebesar 10%.

6.2.6 Tambak campuran berisiko rendah

- a) metode pengambilan contoh yang digunakan adalah acak berlapis dan acak sederhana;
- b) dugaan prevalensi sebesar 2% - 5%.

6.3 Pengambilan contoh uji

- a) siapkan wadah contoh uji berupa botol plastik, kantong plastik atau wadah lain yang sesuai;
- b) siapkan peralatan pengambilan contoh uji antara lain sarung tangan, masker, peralatan bedah, kertas label, *ice box* untuk sampel beku atau dingin, alkohol dan korek api;
- c) sterilkan wadah contoh uji dan peralatan bedah (gunting dan skapel) dengan alkohol 70%;
- d) awetkan contoh uji dengan alkohol 95% untuk diagnosis penyakit dengan metode biologi molekuler atau PCR sesuai dengan SNI;
- e) awetkan contoh uji dengan larutan fiksatif *Davidson* untuk diagnosis penyakit dengan metode histopatologi sesuai dengan SNI;
- f) cantumkan identitas contoh uji sebagai berikut:
 1. nomor
 2. tanggal
 3. jenis
 4. lokasi
- g) identitas contoh uji dicatat dalam *logbook* dengan informasi sebagai berikut :
 1. nama atau nomor contoh
 2. deskripsi contoh
 3. nama petugas pengambil contoh
 4. nama dan alamat produsen atau pemilik contoh
 5. keterangan *batch/lot* dan unit contoh yang diambil
 6. hari dan tanggal pengambilan contoh
 7. suhu saat pengambilan contoh
 8. uji yang akan dilakukan
 9. tingkatan teknologi budidaya
 10. keterangan lain
- h) sertakan surat permohonan pengujian;
- i) kirim segera contoh uji ke laboratorium dalam keadaan beku.

6.4 Interpretasi hasil

6.4.1 Insidensi

- a) insidensi mengukur tingkat penyebaran kasus baru;
- b) tingkat insidensi suatu penyakit dihitung dengan rumus:

$$\text{Tingkat insidensi} = \frac{\text{Total kasus baru dalam suatu waktu tertentu}}{\text{Rata – rata jumlah populasi berisiko} \times \text{waktu}}$$

6.4.2 Prevalensi

Prevalensi suatu penyakit pada suatu populasi dapat dihitung sebagai berikut:

$$\text{Prevalensi} = \frac{\text{Jumlah kasus penyakit pada waktu tertentu}}{\text{Populasi yang berisiko pada waktu tertentu}}$$

6.4.3 Notifikasi

- a) notifikasi suatu kasus penyakit tertentu berdasarkan pada:
 - 1) data observasi abnormalitas suatu penyakit antara lain gejala klinis, pertumbuhan lambat, peningkatan kematian, perubahan tingkah laku;
 - 2) data hasil uji dari laboratorium yang terakreditasi dengan tingkat spesifikasi dan sensitifitas yang terpercaya.
- b) notifikasi suatu penyakit tertentu dilakukan oleh otoritas kompeten.

6.4.4 Pemetaan

Hasil surveilans digunakan untuk memetakan daerah yang terinfeksi dan daerah yang masih bebas dari suatu penyakit tertentu.

Lampiran A
(informatif)
Cara pembuatan larutan fiksatif Davidson untuk setiap liter

alkohol 95%	330 ml
formalin	220 ml
asam asetat glasial	115 ml
air (akuades)	335 ml

1. Larva dan pascalarva difiksasi dengan cara perendaman dalam larutan fiksatif perbandingan volume spesimen : fiksatif = 1 : 10, selama 12 jam hingga 24 jam, selanjutnya dipindahkan ke alkohol 50% untuk penyimpanan atau pengiriman dalam wadah gelas atau plastik.
2. Udang ukuran tokolan, juvenil, besar diinjeksi dengan larutan fiksatif organ seperti hepatopankreas, lambung dan daerah intestinum pada segmen abdominal ke 4, sedangkan udang ukuran lebih kecil dilakukan dengan cara cangkang dibuka secara longitudinal atau dipotong, dan difiksasi selama 12 jam - 48 jam. Selanjutnya dipindahkan ke alkohol 70% untuk penyimpanan atau pengiriman.



Lampiran B
(informatif)
Cara perhitungan contoh uji dengan rumus

- 1) Untuk menduga prevalensi suatu penyakit di dalam suatu populasi maka besaran contoh uji (n_1) yang dibutuhkan dapat diperoleh dengan rumus sebagai berikut :

$$n_1 = 4 PQ / L^2$$

n_1 : jumlah contoh uji pada tingkat kepercayaan 95%
 P : prevalensi penyakit
 L : tingkat galat/penyimpangan
 $Q = 1 - P$

Apabila n_1 lebih besar 10% dari populasi (N) maka jumlah contoh uji yang diperlukan dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$n_2 = 1 / (1/n_1 + 1/N)$$

n_2 : jumlah contoh uji apabila $n_1 > 10\%$ dari populasi (N)
 n_1 : jumlah contoh uji pada tingkat kepercayaan 95%
 N : jumlah populasi sebenarnya

Contoh perhitungan :

Dilakukan suatu surveilans untuk mengetahui prevalensi IMNV di daerah kawasan tambak intensif yang berisiko tinggi. Prevalensi IMNV pada daerah pertambakan tersebut adalah 10%. Tingkat galat atau penyimpangan adalah 1% dengan tingkat kepercayaan 95%.

Jumlah contoh uji (n_1) yang diperlukan adalah sebagai berikut :

$$\begin{aligned} n_1 &= 4 PQ / L^2 \\ &= 4 \times (0,1) (0,9) / (0,01)^2 \\ &= 0,36 / 0,0001 \\ &= 3\,600 \text{ ekor contoh uji} \end{aligned}$$

Apabila populasi udang pada daerah tersebut adalah 3.000 ekor atau lebih besar 10% dari populasi maka contoh uji (n_2) yang diperlukan adalah :

$$\begin{aligned} n_2 &= 1 / (1/n_1 + 1/N) \\ &= 1 / (1/3\,600 + 1/3\,000) \\ &= 1 / (0,00027 + 0,00033) \\ &= 1 / 0,0006 \\ &= 1.666 \text{ ekor} \end{aligned}$$

- 2) Untuk mendeteksi keberadaan suatu penyakit dalam populasi maka besaran contoh uji (n) yang dibutuhkan dapat diperoleh dengan rumus sebagai berikut :

$$n = [1 - (1 - a)^{1/D}] [N - (D - 1)/2]$$

n : jumlah sampel
 a : tingkat kepercayaan

N : jumlah populasi
D : perkiraan jumlah hewan sakit dalam populasi

Tingkat prevalensi (P) dihitung dengan rumus : $P = D / N$

Contoh perhitungan :

Surveilans penyakit *Taura syndrome* dilakukan pada daerah pertambakan tradisional beresiko tinggi. Tingkat prevalensi adalah 10% dengan tingkat kepercayaan 95%. Populasi udang di daerah tersebut adalah 100 000 ekor.

Jumlah contoh uji yang diperlukan adalah sebagai berikut :

Perkiraan jumlah hewan sakit dalam populasi (D) $= P \times N$
 $= 10\% \times 100\ 000$
 $= 10\ 000$

n $= [1 - (1 - a)^{1/D}] [N - (D - 1)/2]$
 $= [1 - (1 - 0,95)^{1/10.000}] [100.000 - (10.000 - 1)/2]$
 $= [1 - (0,05)^{0,0001}] [100.000 - 4.999,5]$
 $= [1 - 0,9957] [95.000,5]$
 $= 0,0043 \times 95.000,5$
 $= 408 \text{ ekor}$



Lampiran C (informatif)

Cara perhitungan contoh uji dengan *Software Survey Toolbox*

Contoh kasus :

- a) surveilans aktif penyakit viral pada udang (WSSV, TSV, IMNV dan IHHNV)
- b) populasi total : 20 000 ekor udang
- c) jumlah bak : 20 buah
- d) jumlah udang per bak : 1 000 ekor
- e) frekuensi pengambilan contoh : tiga bulan sekali
- f) prevalensi minimal : 5%
- g) metode uji/diagnostik : PCR
- h) sensitivitas uji : 95
- i) spesifitas uji : 99,5

Langkah-langkah penggunaan *software* “*Survey Toolbox*” untuk surveilans pada suatu populasi udang di bak terkontrol :

- a) Buka *software Survey Toolbox*;
- b) Pilih menu program “*FreeCalc Freedom from Disease*”;
- c) Isi kotak berikut ini :
 - *Test Sensitivity* : 95
 - *Test Specificity* : 99.5
 - *Population Size* : 20 000 (*contoh*)
 - *Minimum Expected Prevalence (Maximum Acceptable Prevalence)* : 5%

Keterangan :

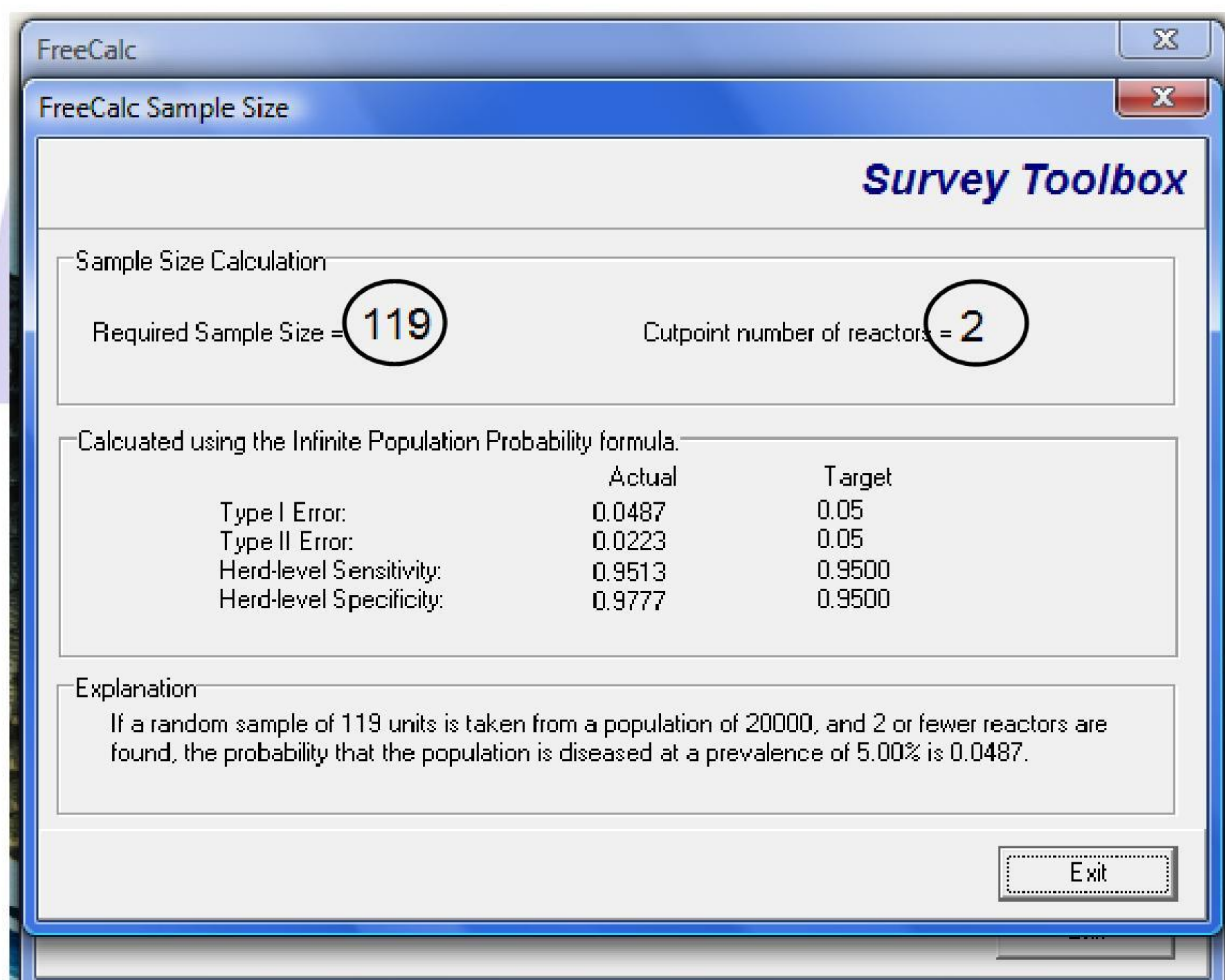
- metode diagnostik dengan PCR memiliki sensitivitas dan spesifitas sebesar 95 dan 99,5%.
- “*Population size*” dapat diisi sesuai jumlah populasi udang yang akan diuji.

1. Tekan tombol "Calculate"

- *Required Sample Size* = 119
- *Cutpoint number of reactors* = 2

Keterangan :

- Jumlah sampel yang dibutuhkan untuk pengujian 119 ekor. Hal ini berarti bahwa setiap 168 ekor udang (20 000/119) diambil satu ekor sampel.
- Apabila ada 20 bak dengan masing-masing populasi per bak adalah 1 000 udang maka tiap bak diambil 6 ekor udang (1 000/168)
- Untuk penghematan bahan diagnostik PCR, pengujian dapat dilakukan dengan mengelompokkan 6 ekor udang dalam satu bak menjadi satu kali uji.
- Apabila ada hasil uji yang positif, maka perlu dilakukan uji secara individual dalam kelompok tersebut.
- Populasi dinyatakan bebas dari penyakit viral apabila ditemukan sampel positif maksimal 2 individu
- Apabila ada hasil positif lebih dari 2 individu maka populasi tersebut dinyatakan tidak bebas dari penyakit viral



2. Contoh perhitungan atau interpretasi hasil
 - a) Hasil tes individu yang positif sebanyak 2 buah dan tekan tombol "Calculate"

FreeCalc Survey Toolbox

Sample Size | Analyse Results | Options

Survey Sample Size: 119

Number of positive reactors: 2

Test Sensitivity: 95 %

Test Specificity: 99.5 %

Population Size: 20000

Prevalence:

- ☒ Minimum Expected Prevalence: 5 %
- ☐ Number of Diseased Animals: 1000

Buttons: Help, Calculate, Exit

FreeCalc Analysis Survey Toolbox

Null Hypothesis: $p = 0.048692$

This is the probability of observing 2 reactors or fewer in a sample of 119 animals from a population with a disease prevalence of 5.0000%.

Alternative Hypothesis: $p = 0.119923$

This is the probability of observing 2 reactors or more in a sample of 119 animals from a disease free population.

Calculated using the Infinite Population Probability formula.

Conclusion: These results are adequate to reject the null hypothesis and conclude that the population is free from disease (at the expected minimum prevalence of 5.0000%) at the 95.131% confidence level.

Buttons: Exit

Kesimpulan : populasi bebas dari penyakit viral pada tingkat kepercayaan 95% dengan minimum prevalensi 5%

- b) Hasil tes individu yang positif sebanyak 3 buah dan tekan tombol "Calculate"

FreeCalc

Freedom from Disease **Survey Toolbox**

Sample Size | Analyse Results | Options

Survey Sample Size: 119

Number of positive reactors: 3

Test Sensitivity: 95 %

Test Specificity: 99.5 %

Population Size: 20000

Prevalence:

- ☒ Minimum Expected Prevalence: 5 %
- ☐ Number of Diseased Animals: 1000

Help Calculate Exit

FreeCalc Analysis

Survey Toolbox

Null Hypothesis: $P = 0.125996$

This is the probability of observing 3 reactors or fewer in a sample of 119 animals from a population with a disease prevalence of 5.0000%.

Alternative Hypothesis: $P = 0.022280$

This is the probability of observing 3 reactors or more in a sample of 119 animals from a disease free population.

Calculated using the Infinite Population Probability formula.

Conclusion:

These results are not adequate to conclude that the population is free from disease (at the expected minimum prevalence of 5.0000%). The confidence level is only 87.400%. We may conclude that the population is diseased at a confidence level of 97.772%.

Exit

Kesimpulan : populasi tidak bebas dari penyakit viral pada tingkat kepercayaan 95% dengan minimum prevalensi 5%

Bibliografi

Bondad-Reantaso, M.G., McGladdery, S.E., East, I., and Subasinghe, R.P. (eds.) *Asia Diagnostic Guide to Aquatic Animal Diseases*. FAO Fisheries Technical Paper No. 402, Supplement 2. Rome, FAO. 2001. 240 p.

Cameron, A. 2002. *Survey Toolbox for Aquatic Animal Diseases*. A Practical Manual and Software Package. ACIAR Monograph No. 94, 375p.

OIE. 2012. *Aquatic Animal Health Code*. Chapter 1.4. Aquatic Animal Health Surveillance

Software Survey Toolbox. AusVet Animal Health Service.
<http://www.ausvet.com.au/content.php?page=software#freecalc>

